

HOSPITAL DE LA SANTA CREU I SANT PAU
DEPARTAMENT DE MEDICINA
FACULTAT DE MEDICINA

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

PREVALENCIA DE LAS ALTERACIONES
BIOLÓGICAS CAUSANTES DE TROMBOFILIA EN
LA POBLACIÓN ESPAÑOLA

Tesis presentada por

José Mateo Arranz

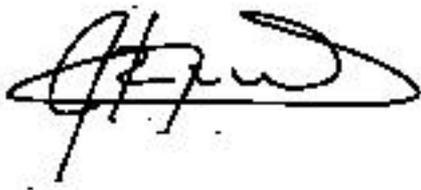
Para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía

Barcelona, diciembre de 2001

Jordi Fontcuberta Boj, Cap de la Unitat d'Hemostàsia i Trombosis, del Departament d'Hematologia de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

CERTIFICA

Que la tesi "PREVALENCIA DE LAS ALTERACIONES BIOLÓGICAS CAUSANTES DE TROMBOFILIA EN LA POBLACIÓN ESPAÑOLA" presentada pel Llicenciat en Medicina i Cirurgia José Mateo Arranz per a accedir al grau de Doctor, ha estat realitzada sota la meua direcció i es troba en condicions d'ésser llegida.



Signat, Jordi Fontcuberta Boj

BARCELONA, a 20 de desembre de 2001.

A Silvia, que ha sido el motor de mi vida.
A mis hijos Eva y Pep, lo mejor que he hecho nunca.
A mi madre, a quien la vida le privó de disfrutar de sus nietos.
A mi padre y a mis hermanas Nieves y Sara.

A Jordi Fontcuberta, por haber confiado en mí desde que finalicé la residencia, por haber sido un gran maestro no sólo en el campo profesional, sino también en el humano. A su lado he aprendido todo lo que sé de la hemostasia y también a valorar otros aspectos de la vida. El reconocimiento como experto, pero también como persona en el ámbito nacional e internacional, hace que uno a su lado se sienta un privilegiado.

A Miquel Rutllant, por acceder a tutelar esta tesis y por haber hecho posible el elevado nivel del Departamento que dirige. A pesar de ser una institución en la Hematología de nuestro país, siempre ha estado ahí, dispuesto a escuchar, apoyar y a innovar.

A Arturo Oliver, además de buen hematólogo, gran experto en estadística y gran amigo. Gracias a estos y otros estudios se fraguó esta amistad, y gracias a la amistad pudieron soportarse las duras sesiones de análisis y de interpretación de los datos.

A Montserrat Borrell, el fundamento de nuestro laboratorio. Ella hace que nuestro trabajo sea tranquilo porque, a pesar de la complejidad de un laboratorio de hemostasia, las mediciones tienen una gran fiabilidad. Además siempre está ahí, dispuesta a interrumpir su trabajo para aportar su espíritu crítico, explicar, considerar y discutir todos los temas y dudas que puedan existir.

A Juan Carlos Souto, empezamos juntos en esto de la hematología, y es difícil pensar en otro compañero mejor.

A mis erres grandes, Jordi Fornells, Isabel Zuazu, Paco Ortuño y Carmen Canals. Los erres grandes siempre dejan una huella indeleble de admiración y respeto. Ellos nos enseñaron mucho, en especial del difícil arte de sobrevivir en las primeras guardias, y en la dura sala de hematología.

A Salud Brunet, porque con ella aprendí la importancia de la clínica, el no perder de vista el objetivo de un médico y el difícil arte de valorar el contexto del enfermo.

A todos los demás compañeros médicos del Departamento de Hematología, por su amistad y por compartir sus conocimientos tanto en la época de formación, como en la etapa de *deformación*.

A Amparo Santamaría, por su amistad y capacidad de trabajo, incansable.

A todos los coautores de los trabajos que aún no he citado.

A Isa Tirado, porque además de una gran amiga, es de esas personas que hacen que todo funcione.

A José Manuel Soria, que es capaz de descender de los genes a la vida real, con el que comparto empáticamente los avatares del crecimiento y desarrollo de nuestras respectivas descendencias.

A todas los técnicos de laboratorio que hacen posible todo lo que produce nuestra unidad: Rosa Felices, Tere Urrutia, Cris Vallvé, Dolors Llobet, Quino Murillo, Loreto Segrià, Mercè Garí, Eli Martínez.

A las administrativas, María Jesús Gallego y Beatriz Carreras que hacen que la Unidad funcione, y por ende hacen posible nuestro trabajo asistencial y científico. Además siempre con competencia y buen humor. A Natacha Reinoso, por su participación en el estudio EMET. Y, como no, a Mari Badía, por su compañía y vitalidad inagotable.

A Silvestre Martín, que fue el responsable de la base de datos que recogió todos datos del estudio EMET. De la explotación de esos datos he aprendido de ordenadores, de bases de datos y del difícil arte de lidiar con informáticos y elementos afines.

A todos los miembros de extracciones, por su colaboración en la extracción de las muestras. Siempre están dispuestos a pinchar analíticas con la mejor disposición.

A todos los participantes en estudio EMET, por su riguroso trabajo de recogida de datos clínicos y de las muestras del estudio.

A todos los demás compañeros del Hospital, en especial a los miembros de la Junta de la ACPF, por su competencia y paciencia.

A los que me olvido, que me perdonen.

ÍNDICE

Introducción	7
Generalidades	8
1. Patogenia de la trombosis	9
1.1. Factores trombogénicos	9
1.1.1. Activación o destrucción del endotelio	9
1.1.2. Papel de las plaquetas en la trombogénesis	10
1.1.3. Activación de la coagulación	12
1.1.4. Alteraciones del flujo sanguíneo	12
1.2. Mecanismos protectores	14
1.2.1. Propiedades antitrombóticas del endotelio	14
1.2.2. Inhibidores de la coagulación	16
1.2.3. Sistema fibrinolítico	18
1.3. Patogenia de la enfermedad tromboembólica venosa	20
2. Estados de riesgo trombotico y trombofilia	21
2.1. Deficiencia de antitrombina	22
2.2. Deficiencia de proteína C	24
2.3. Deficiencia de proteína S	26
2.4. Resistencia a la proteína C activada. Mutación factor V Leiden	28
2.5. Mutación G20210A del gen de la protrombina	29
2.6. Deficiencia de cofactor II de la heparina	30
2.7. Disfibrinogenemias	31
2.8. Hiperhomocisteinemia moderada	31
2.9. Anticuerpos antifosfolípidos	33
2.10. Anomalías combinadas	34
2.11. Otros candidatos	34
3. Situaciones clínicas que cursan con trombofilia secundaria	35
Justificación del tema unitario	37
Objetivos	42
Artículos publicados	45
Trabajo 1: Laboratory evaluation and clinical characteristics of 2,132 consecutive unselected patients with venous thromboembolism--results of the Spanish Multicentric Study on Thrombophilia (EMET-Study). <i>Thromb Haemost.</i> 1997; 77:444-51.	46
Trabajo 2: Increased risk of venous thrombosis in carriers of natural anticoagulant deficiencies. Results of the family studies of the Spanish Multicenter Study on Thrombophilia (EMET study). <i>Blood Coagul Fibrinolysis.</i> 1998 ; 9: 71-8.	55
Trabajo 3: Patients with venous thromboembolism have a lower APC response than controls. Should this be regarded as a continuous risk factor for venous thrombosis? <i>Haematologica.</i> 1999; 84: 470-2.	64
Trabajo 4: The prothrombin 20210A allele is the most prevalent genetic risk factor for venous thromboembolism in the Spanish population. <i>Thromb Haemost.</i> 1998; 80: 366-9.	68
Trabajo nº 5 Moderate hyperhomocysteinemia is a highly prevalent defect in Spanish patients with venous thromboembolic disease. <i>Haematologica.</i> 1998; 83: 1126-7.....	73
Trabajo nº 6 Lack of association between venous thrombosis and subsequent malignancy in a retrospective cohort study in young patients. <i>Am J Hematol.</i> 1999; 60: 181-4.	76
Trabajo nº 7 Activated protein C resistance assay when applied in the general population. <i>Am J Obstet Gynecol.</i> 1997; 176: 358-9.	81
Trabajo nº 8 Risk of thrombosis associated with oral contraceptives of women from 97 families with inherited thrombophilia: high risk of thrombosis in carriers of the G20210A mutation of the prothrombin gene. <i>Haematologica</i> 2001; 86: 965-971.	84
Discusión conjunta	92
Consideraciones finales	101
Conclusiones	104
Bibliografía	108

Introducción

GENERALIDADES

Los trombos pueden formarse en cualquier localización del sistema cardiovascular, incluyendo las venas, las arterias, el corazón y la microcirculación. Las complicaciones de la trombosis están ocasionadas por los efectos de la obstrucción del paso o por embolización a distancia de material trombótico y, con menor frecuencia, por consumo de factores hemostáticos. Normalmente los trombos venosos aparecen en las extremidades inferiores. Con frecuencia son silentes, pero pueden producir síntomas agudos si causan inflamación de la pared venosa, obstrucción al flujo o si embolizan en la circulación pulmonar. Tardíamente se producen lesiones en las válvulas venosas de las extremidades inferiores.

La trombosis arterial normalmente se asocia a patología vascular previa, fundamentalmente la aterosclerosis. Produce manifestaciones clínicas causadas por la isquemia tisular, por obstrucción o por embolización en la microcirculación distal. Los trombos intracardiacos se forman sobre las válvulas lesionadas o inflamadas, en el endocardio adyacente a una zona de infarto de miocardio, en una cavidad cardiaca discinética o dilatada o en válvulas protésicas o dispositivos endovasculares. Suelen ser asintomáticos si permanecen dentro del corazón pero pueden causar importantes y desastrosas complicaciones si embolizan en la circulación sistémica. La trombosis diseminada en la microcirculación es una complicación de la coagulación intravascular sistémica. Los microtrombos pueden producir necrosis isquémica o hemorragias por consumo de plaquetas y factores de coagulación.

Los trombos están formados por fibrina y células sanguíneas. La proporción relativa de un tipo y otro de células y de la fibrina está influida por factores hemodinámicos. Por ello, las proporciones son diferentes en los trombos arteriales o venosos.¹ El trombo arterial se forma en un ambiente de flujo rápido y está formado principalmente de filamentos de fibrina y plaquetas.² El trombo venoso se forma en áreas de estasis y está compuesto por hematíes entremezclados con fibrina y relativamente pocas plaquetas.

A medida que envejecen, los trombos cambian estructuralmente. Los leucocitos acuden atraídos por factores quimiotácticos liberados por las plaquetas o por fragmentos de proteínas plasmáticas y se incorporan al trombo.¹ Los agregados de plaquetas son reemplazados progresivamente por fibrina, la cual es eventualmente digerida por los enzimas fibrinolíticos liberados por los leucocitos y las células endoteliales.^{3,4} El trombo arterial se suele formar en zonas de flujo alterado y en los lugares de ruptura de placas de aterosclerosis que exponen el subendotelio trombogénico a las plaquetas y a los factores de

la coagulación. Además la ruptura de la placa puede producir una estenosis adicional por la presencia de hemorragia dentro de la propia placa. Cuando el flujo es rápido, el trombo puede ocluir parcialmente el vaso o embolizar a distancia. Cuando el flujo es bajo y el grado de estenosis importante, o si el estímulo protrombótico es muy intenso, el trombo puede ser totalmente oclusivo. Los trombos no oclusivos pueden ser incorporados a la pared vascular y producir una aceleración del crecimiento de las placas de ateroma.¹

1. PATOGENIA DE LA TROMBOSIS

La trombosis puede ocurrir cuando existe un fracaso en el balance entre los factores trombogénicos y los mecanismos antitrombóticos protectores. Los factores protrombóticos son: 1) alteración de las células endoteliales; 2) pérdida del endotelio y exposición del subendotelio; 3) activación de las plaquetas por interacción con agonistas circulantes o con el colágeno subendotelial; 4) activación de la coagulación; 5) inhibición de la fibrinólisis; y 6) estasis. Los mecanismos antitrombóticos son: 1) las propiedades antitrombóticas del endotelio intacto; 2) la neutralización de los factores activados por componentes unidos al endotelio como heparán-sulfato y trombomodulina; 3) la neutralización de los factores de la coagulación por inhibidores naturales; 4) la dilución de los factores activados y disrupción de agregados plaquetarios por el flujo sanguíneo; 5) el aclaramiento de factores activados por el hígado; y 6) la disolución de los trombos de fibrina por el sistema fibrinolítico.

1.1. Factores trombogénicos

1.1.1. Activación o destrucción del endotelio

El endotelio normal intacto tiene propiedades antitrombóticas y no activa ni las plaquetas ni los factores de la coagulación.⁵ Además, el endotelio contiene y elabora componentes que neutralizan los factores de coagulación activados, inhiben la agregación de las plaquetas y la adhesión y proporcionan una superficie para la activación de la fibrinólisis. Estas propiedades contribuyen a su tromborresistencia y se pierden o se modifican cuando el endotelio se estimula o se lesiona. Las células endoteliales son activadas cuando se exponen a endotoxina, citocinas como la interleucina-1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral (TNF), la trombina, la hipoxia o tensiones por cizallamiento. Las células endoteliales estimuladas

synthetizan factor tisular TF y PAI-1 e internalizan la trombomodulina (TM). Además poseen propiedades proagregantes ya que disminuyen la liberación de PGI₂ (prostaciclina), y aumentan la secreción de PAF (*platelet activating factor*). La IL-1 y el TNF se producen en los monocitos y macrófagos estimulados y en otras células en respuesta a la lesión tisular y son importantes mediadores en la respuesta trombogénica al traumatismo, cirugía, inflamación y a la quimioterapia. Cuando las células endoteliales severamente lesionadas se pierden, el subendotelio se expone a las plaquetas y a los factores de coagulación. Las plaquetas se unen al subendotelio a través de una interacción que importa a las glicoproteínas (GP) de membrana, principalmente la GP-Ib, con las proteínas subendoteliales: el factor von Willebrand, el colágeno, la fibronectina y la vitronectina. Cuando las plaquetas interactúan con el subendotelio, las plaquetas se adhieren y se agregan entre sí, formando un trombo mural que es eventualmente estabilizado por fibrina.

Clínicamente, la lesión endotelial ocurre por lesión directa, como sucede en las angioplastias, en el aislamiento de las venas safenas durante la intervención de *bypass* aortocoronario, en la torsión de la vena femoral que sucede durante la cirugía de cadera, en las quemaduras o en lesiones vasculares directas. La pérdida endotelial, puede aparecer de manera más sutil en lesiones producidas por inmunocomplejos, anoxia, infecciones víricas, bacterianas, situaciones de compromiso hemodinámico, tóxicos, sustancias procedentes del tabaco, niveles elevados de colesterol, o enzimas liberados de las plaquetas y leucocitos en estados inflamatorios.⁵⁻⁷ La lesión vascular por algunos de estos factores puede contribuir a la formación del ateroma y a la trombosis arterial. La lesión vascular y el flujo alterado se potencian entre sí.

1.1.2. Papel de las plaquetas en la trombogénesis

Las plaquetas participan en interacciones que son fundamentales en la trombogénesis. Se adhieren a diferentes superficies (*adhesión plaquetaria*), cambian de forma emitiendo pseudópodos, secretan el contenido de sus gránulos (reacción de liberación plaquetaria), se agregan en acúmulos (agregación plaquetaria) y alteran su superficie de manera que facilitan las reacciones de coagulación (actividad procoagulante). La adhesión está mediada por receptores de membrana alguno de los cuales pertenecen a la superfamilia de las integrinas, caracterizada por su afinidad por péptidos que contienen la secuencia arginina-glicina-aspartico (RDG). Sin embargo, el principal receptor de adhesión plaquetaria no es una integrina, es el complejo glicoproteico GP Ib-IX, cuyo principal ligando es el factor von

Willebrand. Otra glicoproteína, la GP Ia-IIa es el receptor del colágeno. También son receptores de la fibronectina, laminina y vitronectina. Todas estas proteínas están presentes en la matriz subendotelial de los vasos normales y en las placas ateroscleróticas.^{1,5,8} Las proteínas adhesivas más importantes son el colágeno y el factor von Willebrand. Después de la adhesión se produce una *reacción de liberación plaquetaria*. Los agentes proagregantes como el ADP, el colágeno, la trombina, la adrenalina, el PAF y el tromboxano A₂, hacen que las plaquetas liberen el contenido de sus gránulos.⁹ Existen dos tipos de gránulos, los densos que contienen serotonina, ADP y Ca⁺⁺ y los α , que contienen sustancias específicas de las plaquetas (PF₄, β -tromboglobulina, PDGF) y otras proteínas como fibrinógeno, factor V, factor von Willebrand, HMWK, α_1 -antitripsina y α_2 -macroglobulina. Los agonistas que inducen la liberación también inducen la síntesis de prostaglandinas en las plaquetas que finalizan en la liberación de tromboxano A₂. Finalmente se produce la *agregación plaquetaria* que puede ser inducida por ADP, colágeno, trombina, tromboxano A₂ y adrenalina. La reacción de agregación está precedida por un cambio en la forma de las plaquetas por la contracción de la actomiosina plaquetaria que se acompaña por la centralización del sistema microtubular. Morfológicamente las plaquetas emiten pseudópodos. La agregación plaquetaria requiere la integrina GP IIb-IIIa, que es el principal receptor del fibrinógeno y también del factor von Willebrand. En contraste con la GP-Ib, la GP IIb-IIIa sólo es funcional si las plaquetas son activadas. Su exposición y su unión al fibrinógeno es la vía fisiológica por la cual los agentes proagregantes causan agregación plaquetaria. Prácticamente todos los agonistas de la agregación plaquetaria actúan por una vía común que tiene que ver con la elevación de la concentración citoplasmática de Ca iónico (Ca⁺⁺) a partir del sistema canalicular. La recaptación de Ca⁺⁺ en el sistema canalicular es AMPc dependiente. El incremento del AMPc reduce la movilización de Ca⁺⁺. La prostaciclina es un potente activador de la adenilciclasa plaquetaria, por lo que produce incrementos de AMPc y en consecuencia ejerce efectos antiagregantes e inhibe la reacción de liberación. Las plaquetas presentan propiedades *procoagulantes*. La generación de trombina en el plasma se acelera en presencia de plaquetas. Las plaquetas estimuladas adquieren una capacidad importante para catalizar las interacciones entre los factores de la coagulación activados. Las interacciones entre los factores IXa y VIIIa y entre los factores Xa, Va y protrombina ocurren en la superficie de las membranas plaquetarias, donde la eficiencia de las reacciones está incrementada.¹ Los factores vitamina-K dependientes, se unen a la membrana fosfolipídica mediante los residuos γ -carboxiglutámicos en un proceso dependiente del Ca⁺⁺. Se han identificado receptores para la factor Xa y para el complejo factor VIII-von Willebrand en la

superficie de la membrana plaquetaria. La unión del factor Xa a su receptor, que es el factor Va, lo mantiene protegido de su inactivación por la antitrombina.

1.1.3. Activación de la coagulación

El proceso de la coagulación implica una serie de complejos pasos que finalizan en la formación de un coágulo de fibrina¹⁰. Los factores de coagulación circulan en forma de zimógenos o procofactores. Cada zimógeno se convierte en factor activado (enzima), que a su vez activa el siguiente factor. En cada paso en la secuencia de la coagulación, el sistema se amplifica de una manera explosiva, y se culmina en la formación de trombina, el enzima final que convierte el fibrinógeno en fibrina. La trombina, a su vez, es un importante estímulo de la agregación plaquetaria, activa el factor V, el VIII y el factor XIII. La mayoría de las reacciones claves de la coagulación son dependientes de la presencia de fosfolípidos y Ca^{++} , con excepción de la interacción de la trombina y el fibrinógeno que es independiente del Ca^{++} y de los fosfolípidos.

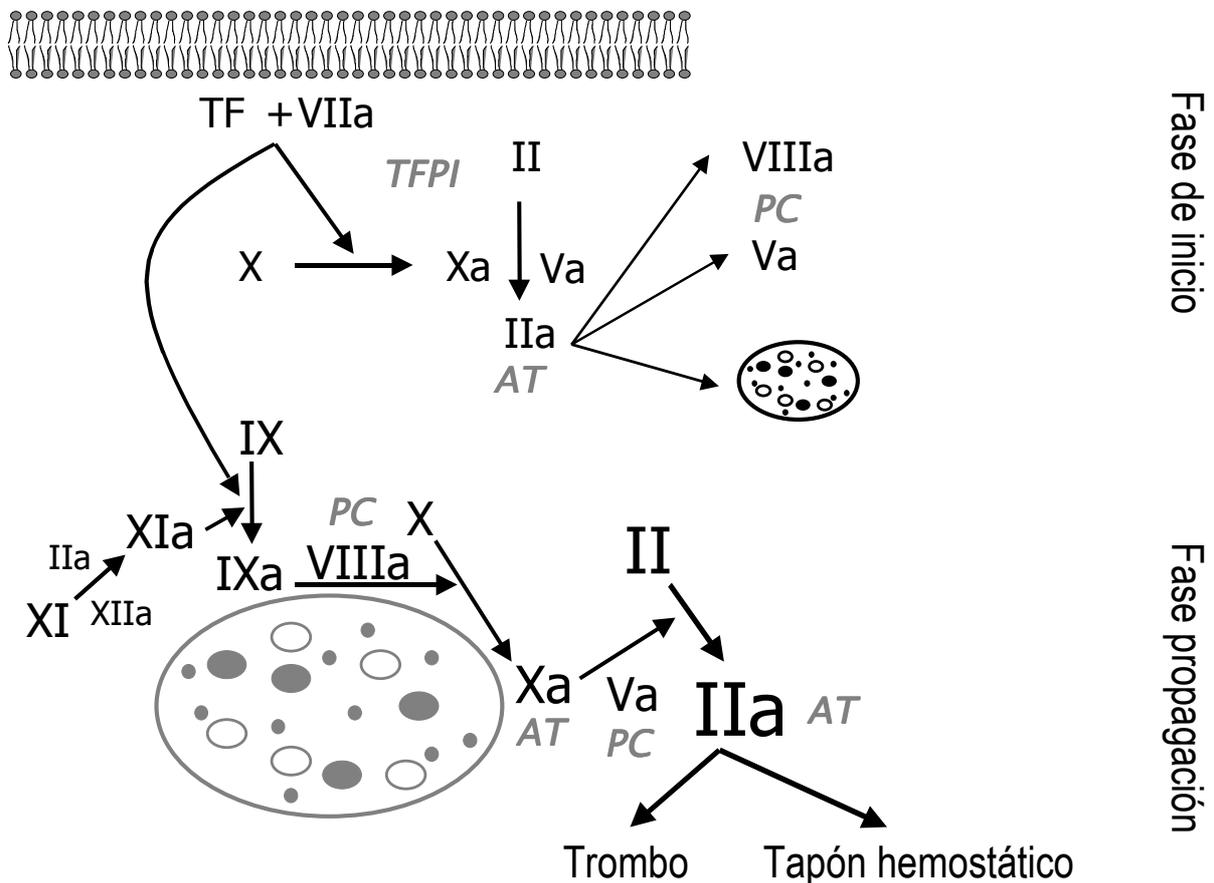
In vivo (ver figura 1 coagulación), las reacciones de coagulación probablemente se inician por la exposición del factor tisular (TF) a la sangre. Entonces, el factor VII se activa (VIIa). El factor VIIa es capaz de activar el factor X y el IX. La activación del factor X, hace que se generen cantidades pequeñas de trombina, ya que el TFPI (*tissue factor pathway inhibitor*) inhibe eficazmente esta vía si la exposición de TF no es masiva. Esta generación de trombina es suficiente para activar otros factores que van a ser necesarios en las reacciones de la coagulación (factor Va, VIIa, XIa) y también las plaquetas. El complejo TF/VIIa activa el factor IX y esta vía no es inhibible por el TFPI. Los niveles de IXa se aumentan además por la acción del XIa. El IXa en unión al VIIa activa el factor X, y el Xa unido al Va activa la protrombina y se genera trombina en cantidades muy importantes. La trombina degrada el fibrinógeno para formar fibrina que posteriormente es estabilizada por el factor XIIIa. La trombina unida a la fibrina es resistente a la inhibición de la antitrombina.

1.1.4. Alteraciones del flujo sanguíneo

En los vasos normales el flujo sanguíneo sigue un patrón laminar, con los hematíes que tienden a localizarse en el centro de la luz y las plaquetas en la zona más periférica, favoreciéndose así las interacciones de las plaquetas con el endotelio. En las bifurcaciones de los vasos y en las zonas en las que las paredes están alteradas, con frecuencia por placas

ateroscleróticas, se producen flujos turbulentos que favorecen la deposición de las plaquetas. Estas situaciones favorecen la trombosis en las arterias. En el caso de las trombosis venosas, es más importante el enlentecimiento del flujo y la trombosis suele originarse en los fondos de saco de las válvulas venosas de las venas principales de las extremidades inferiores.

Figura 1. Representación esquemática de la coagulación. En una fase inicial el factor tisular (TF) que, en condiciones normales, no está en contacto con la sangre, se expone a ella y tras unirse al factor VIIa, inicia la vía extrínseca (su inhibidor es el TFPI). Se genera una cantidad de trombina (IIa) suficiente para activar las plaquetas, y los factores VIII y V (fase inicial). Casi simultáneamente se activa el factor IX, que junto al factor VIIIa genera Xa. Éste, con el Va como cofactor, genera trombina (IIa) en grandes cantidades (fase de propagación). Esta fase es inhibida fundamentalmente la antitrombina (AT) y por la vía de la proteína C (PC).



1.2. Mecanismos protectores

Normalmente, la trombogénesis está modulada por varios mecanismos protectores de gran eficiencia. Estos incluyen la presencia de un endotelio intacto, los inhibidores de la coagulación, el aclaramiento hepático de factores, el sistema fibrinolítico y la dilución de los factores por efectos del flujo sanguíneo.

1.2.1. Propiedades antitrombóticas del endotelio.

Los glicosaminoglicanos de la superficie endotelial y la trombomodulina son potentes inhibidores de la coagulación, mientras que la generación endotelial de prostaciclina, óxido nítrico, y activadores de la fibrinólisis limitan la agregación plaquetas y la deposición de fibrina.⁵ La trombina generada se une a la trombomodulina y pierde su actividad procoagulante (de activar los factores V, VIII, XIII y fibrinógeno), y el complejo formado activa la proteína C, cuya principal misión es inactivar los factores VIIa y Va, bloqueando la generación de Xa y IIa.¹¹ Además, rientemente se ha identificado un receptor endotelial de la proteína C activada específico (EPCR, o *endothelial protein C receptor*) que aumentaría la eficiencia de estas reacciones.¹² La proteína C también puede activarse solamente con la unión al EPCR, aunque debe disociarse para después unirse a la proteína S, cofactor necesario para su correcta unión a las superficies celulares donde tiene lugar la inactivación de los factores VIIa y Va (ver figura 2). La trombina también se une al heparán-sulfato de la superficie endotelial. Esta unión aumenta de manera muy importante la eficiencia de la antitrombina en la neutralización de la trombina.

1.2.2. Inhibidores de la coagulación

La antitrombina un inhibidor de serinproteasas sintetizado en el hígado que se encuentra en plasma a una concentración de 2,4 μM .¹³ Es el principal inhibidor de la trombina y del factor Xa pero también inactiva los factores IXa, XIa, XIIa, calicreína y plasmina. También inhibe al factor VIIa unido al factor tisular. La actividad inhibitoria se incrementa unas 1.000 veces en presencia de heparina que *in vivo* tiene su equivalente en el proteoglicano sulfato de heparán presente en el endotelio vascular. La molécula de antitrombina se une a la molécula de heparina a través de una secuencia discontinua de residuos básicos (Lys, Arg) en la zona aminoterminal. La trombina se une también a la cadena de heparina de una manera no específica mediante cargas electrostáticas. De esta manera se forman complejos ternarios heparina-antitrombina-trombina en los que el sitio activo de la trombina se acerca al sitio reactivo de la antitrombina. El factor Xa y otros factores activados de la coagulación se unen sólo débilmente a la heparina y son inhibidos por el complejo heparina-antitrombina gracias al cambio conformacional que induce la heparina.

El cofactor II de la heparina es otro inhibidor de serinproteasas análogo a la antitrombina, también de síntesis hepática. Sólo inhibe la trombina y no otros factores activados. Su poder inhibitorio se incrementa extraordinariamente en presencia de glicosaminoglicanos pero el estímulo más potente es el sulfato de dermatán.

Otro inhibidor de importancia en el inicio de la coagulación es el TFPI.¹⁴ Tiene especial importancia en la regulación del inicio de la coagulación. A diferencia de otros inhibidores de factores activados no pertenece a la familia de serinproteasas. Posee 3 dominios inhibidores de tipo *Kunitz*. En condiciones normales el TFPI circula en plasma mayoritariamente unido a lipoproteínas y entre un 5-10 % en forma libre. Después de la administración de heparina los niveles plasmáticos de TFPI se incrementan entre 2 y 8 veces. Este TFPI que se libera del endotelio no parece estar asociado a las lipoproteínas. Una pequeña parte de TFPI está asociado a las plaquetas y se libera cuando se activan por la trombina. La actividad anticoagulante del TFPI se desarrolla en 2 etapas (figura 3): en la primera se forma un complejo reversible estequiométrico 1:1 con el factor Xa produciendo la pérdida de actividad catalítica del factor Xa. En la segunda etapa, este complejo se une al factor VIIa-TF unido a la membrana en una reacción que necesita calcio formándose el complejo cuaternario Xa-TFPI-VIIa-TF resultando la pérdida de actividad catalítica del complejo VIIa-TF.

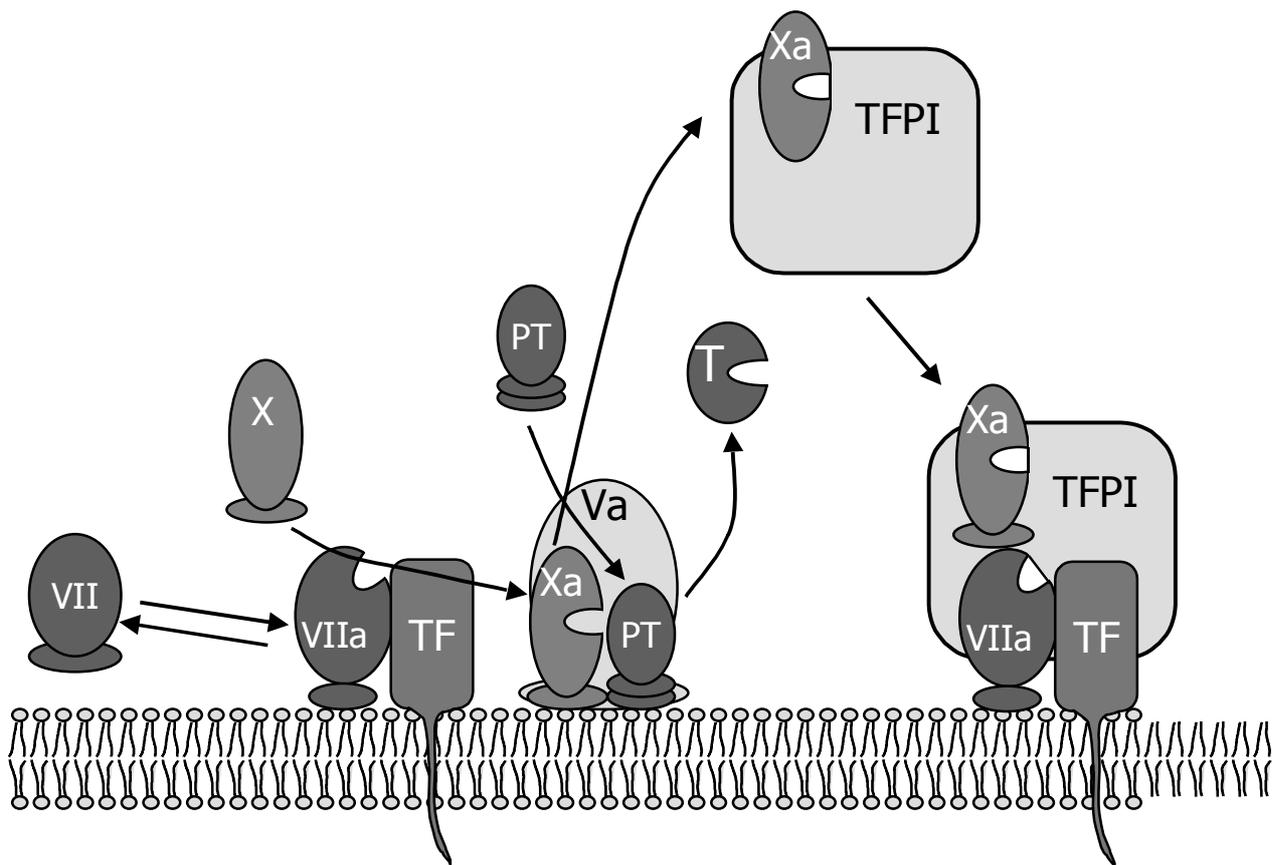


Figura 3. Inhibición de la vía del factor tisular. El factor VIIa se encuentra de manera natural en el plasma, en equilibrio con el factor VII. En el momento en el que se expone factor tisular (TF) a la sangre, el complejo VIIa-TF es capaz de activar al factor X, y el complejo Xa-Va activa la protrombina (PT) a trombina (T). La inhibición se produce cuando el inhibidor de la vía del TF, en inglés *tissue factor pathway inhibitor* (TFPI), se une al factor Xa. Este complejo entonces es capaz de bloquear al complejo VIIa-TF, impidiendo todas las reacciones posteriores.

Un sistema de gran importancia en el control de la coagulación es la vía de la proteína C (figura 2).¹¹ La Proteína C (PC) es una glicoproteína vitamina-K dependiente sintetizada en el hígado que circula en plasma a una concentración de 50-80 nM. Es el precursor de una serin-proteasa y contiene residuos γ -carboxilados que le confieren la capacidad de unirse a los fosfolípidos mediante el calcio. La proteína C se activa (PCa) mediante la acción del complejo que forma la trombina con la trombomodulina, que es un receptor endotelial de la trombina. Así la trombina pierde sus propiedades procoagulantes e inicia una importante vía de control anticoagulante. Una vez activada, la proteína C se une a los fosfolípidos de membrana y actúa como un potente anticoagulante degradando los factores Va y VIIa. En

esta actividad proteolítica actúan como cofactores la proteína S y en propio factor V. La proteína C también puede activarse solamente con la unión a un receptor específico endotelial, el EPCR, aunque debe disociarse para después unirse a la proteína S, cofactor necesario para su correcta unión a las superficies celulares donde tiene lugar la inactivación de los factores VIIa y Va.

La trombomodulina es una proteína integral de membrana. Consta de una zona aminoterminal parecida a la lectina (*lectin-like domain*), seguida de 6 dominios parecidos al factor de crecimiento epitelial (EGF, *epithelial growth factor*), un dominio rico en los aminoácidos serina y treonina, un dominio transmembrana, y una cola citoplasmática. El 5º y 6º EGF son esenciales para la unión a la trombina mientras que la unión calcio-dependiente a la proteína C requiere la región que une el 3º y 4º EGF. En el residuo Ser 474, la TM contiene una cadena de sulfato de condroitín. Se ha identificado trombomodulina humana en diferentes tejidos como vasos linfáticos, placenta, plaquetas, megacariocitos, macrófagos, neutrófilos y células musculares. En la vasculatura se localiza principalmente en los capilares y en menor cantidad en las arterias y venas. La actividad anticoagulante de la trombomodulina consiste en que tras su unión a la trombina, neutraliza la actividad procoagulante de ésta y el complejo formado activa la proteína C. La proteína S es una glicoproteína vitamina-K dependiente. Se sintetiza en el hígado pero también en las células endoteliales y megacariocitos. Se encuentra en plasma a una concentración de 250-350 nM. Está formada por un dominio C-terminal homólogo a la proteína que une a los andrógenos (*androgen binding protein*), 4 EGF, un dominio sensible a la trombina, y un dominio Gla aminoterminal que le facilita su unión al calcio y a la membrana celular. La unión al calcio protege a la proteína S de la degradación por la trombina y, además, induce un cambio de conformación que es necesario para que actúe como cofactor de la PCa. La interacción con la PCa se cree que se realiza mediante el dominio sensible a la trombina y el EGF. La zona parecida al transportador de andrógenos está relacionada con la unión al C4b *binding protein* (C4bBP). El C4bBP es una glicoproteína de alto peso molecular reguladora del complemento, reactante de fase aguda, formada por 7 subunidades α idénticas y una subunidad β . Las subunidades α se unen al C4b y la subunidad β se une a la proteína S. En plasma un 40 % de PS circula libre y posee actividad cofactor para la PCa. El 60% restante está unido al C4bBP y en esta forma no participa en la actividad anticoagulante de la PCa. Después de su activación la PCa es lentamente neutralizada por al menos tres inhibidores de proteinasas: el inhibidor de la PCa, la α_2 -macroglobulina y la α_1 -antitripsina.

1.2.3. Sistema fibrinolítico

La reacción básica del sistema fibrinolítico es la conversión del plasminógeno en plasmina, que es el enzima activo, por una hidrólisis enzimática mediada por varios activadores del plasminógeno. Los activadores del plasminógeno son sintetizados y liberados por células endoteliales y otros tejidos. La plasmina es capaz de hidrolizar la fibrina y otras proteínas plasmáticas de la coagulación, incluyendo fibrinógeno. La actividad del sistema fibrinolítico está modulada por inhibidores que inhiben los activadores del plasminógeno y el efecto proteolítico de la plasmina.^{3,5}

La fibrinólisis fisiológica tiene lugar en la fibrina y en las superficies celulares. Durante la formación de fibrina, el plasminógeno se une a la fibrina mediante unas zonas de alta afinidad (*lysine-binding-sites; LBS*), y se incorpora al trombo. El activador tisular del plasminógeno (t-PA), liberado por el endotelio, se une a un receptor específico de la fibrina, y convierte el plasminógeno en plasmina. La plasmina hidroliza el Glu-plasminógeno nativo y se forma Lys-plasminógeno, que tiene mayor afinidad por la fibrina. La plasmina unida a la fibrina está protegida de la inhibición por la α_2 -antiplasmina. Cuando la plasmina se genera libre en plasma se inactiva rápidamente por la α_2 -antiplasmina y el exceso por la α_2 -macroglobulina.

La fibrinólisis fisiológica se lleva a cabo también sobre la superficie del endotelio. Las células endoteliales pueden unir t-PA y plasminógeno. El t-PA unido a las células endoteliales está protegido de la inhibición por el PAI-1. La trombina puede proteger los trombos de la fibrinólisis porque aumenta la liberación de PAI-1 endotelial y porque activa una carboxipeptidasa plasmática, el TAFI (*thrombin activable fibrinolysis inhibitor*) que es capaz de inhibir la fibrinólisis. Hay evidencias de que la alteración de la fibrinólisis predispone a la trombosis postoperatoria y a la trombosis coronaria.¹⁶

1.3. Patogenia de la enfermedad tromboembólica venosa¹⁷

La enfermedad tromboembólica venosa es multifactorial. Está favorecida por la estasis sanguínea, por factores vasculares y por alteraciones de la sangre que se conocen como hipercoagulabilidad o estado pretrombótico. Estos tres factores se conocen clásicamente como tríada de Virchow. Los trombos venosos son depósitos intravasculares compuestos predominantemente por fibrina y hematíes, con una participación variable de leucocitos y plaquetas. Los trombos venosos suelen formarse en zonas de flujo lento o alterado, y suelen tener su origen en pequeños depósitos en los senos de las válvulas venosas de las venas profundas de las pantorrillas y del muslo, o bien en segmentos venoso expuestos directamente a un trauma. La lentificación del flujo no es un factor suficiente para que se desarrolle una trombosis. *In vivo*, puede iniciarse la activación de la coagulación en diferentes momentos del proceso. La vía intrínseca puede iniciarse por el contacto del factor XII con el colágeno del subendotelio de los vasos sanguíneos lesionados. También puede iniciarse tras la activación de las plaquetas unidas al subendotelio. La vía extrínseca puede iniciarse después de la liberación de factor tisular al torrente vascular desde el foco de la lesión, o también por la exposición en la zona de la lesión como resultado del daño tisular, la activación endotelial y de los leucocitos que migran a la zona de la lesión. Por esta vía puede producirse trombosis en pacientes con grandes quemaduras, politraumatismos o con otras formas de necrosis tisular. El factor X puede activarse también directamente a partir de células malignas que contienen una cisteína-proteasa. Aunque la trombosis venosa no suele producirse por alteraciones tan notables de la pared vascular como las que ocurren en la trombosis arterial, en algunas situaciones se ha demostrado un papel importante de la lesión vascular como la que ocurre en las fracturas de cadera, la cirugía de cadera y rodilla, por lesión directa, torsión o la utilización de los manguitos de isquemia. También pueden considerarse como secundarias a lesiones de la pared la trombosis del sistema venoso axilosubclavio que se presenta en pacientes jóvenes secundaria al esfuerzo o movimientos repetitivos. De igual manera existe lesión vascular en los vasos sanguíneos que alojan catéteres.

2. ESTADOS DE RIESGO TROMBÓTICO Y TROMBOFILIA

Las situaciones de riesgo trombótico pueden considerarse similares en el territorio arterial y venoso. La mayor diferencia entre ambas, se debe a que en la trombosis arterial son muy importante los factores de riesgo de aterosclerosis (hipertensión, diabetes, tabaquismo e hipercolesterolemia) pero no afectan al riesgo de trombosis venosas. De manera didáctica, pueden dividirse las situaciones de riesgo trombótico como primarias, que hoy en día pueden denominarse con el término de trombofilia, y las secundarias que suelen ocurrir asociadas a diversos estados patológicos adquiridos. De manera general, puede definirse trombofilia²² como la predisposición a padecer episodios tromboembólicos, y en sentido amplio que afectan al territorio venoso o arterial. Las alteraciones predisponentes no causan enfermedad de manera continua, sino que debilitan la capacidad de hacer frente a fluctuaciones inducidas por interacciones con el ambiente. Clásicamente se consideraba que los pacientes con trombofilia iniciaban los problemas trombóticos en edad joven, presentaban frecuentes recurrencias, con historia familiar importante, la trombosis aparecía en localizaciones poco habituales y presentaban una severidad desproporcionada al estímulo causal. Existen pacientes en los que la clínica es muy agresiva y sin tratamiento sufren múltiples episodios, pero lo más frecuente es que la clínica sea episódica, con largos periodos libres de síntomas. Esta discontinuidad sugiere que hay algún estímulo desencadenante de cada episodio, bien directamente o que causa una disminución de la resistencia antitrombótica intrínseca del individuo, o combinación de ambas situaciones. El término trombofilia hereditaria reconoce la presencia de factores hereditarios que por sí solos predisponen hacia la trombosis pero que, debido a la naturaleza episódica de la trombosis, requieren interacción con otros componentes (hereditarios o adquiridos) antes de la presentación clínica de la enfermedad (ver figura 4).

Así, la definición más completa de trombofilia hereditaria puede formularse así: *La trombofilia hereditaria es una tendencia hacia el tromboembolismo venoso genéticamente determinada. Anomalías dominantes o combinaciones de defectos menos severos pueden ser clínicamente aparentes desde edades tempranas, recurren con frecuencia y suele existir historia familiar.*

Los factores genéticos identificados como claros causantes de trombofilia se refieren a continuación y se resumen en la tabla 1.

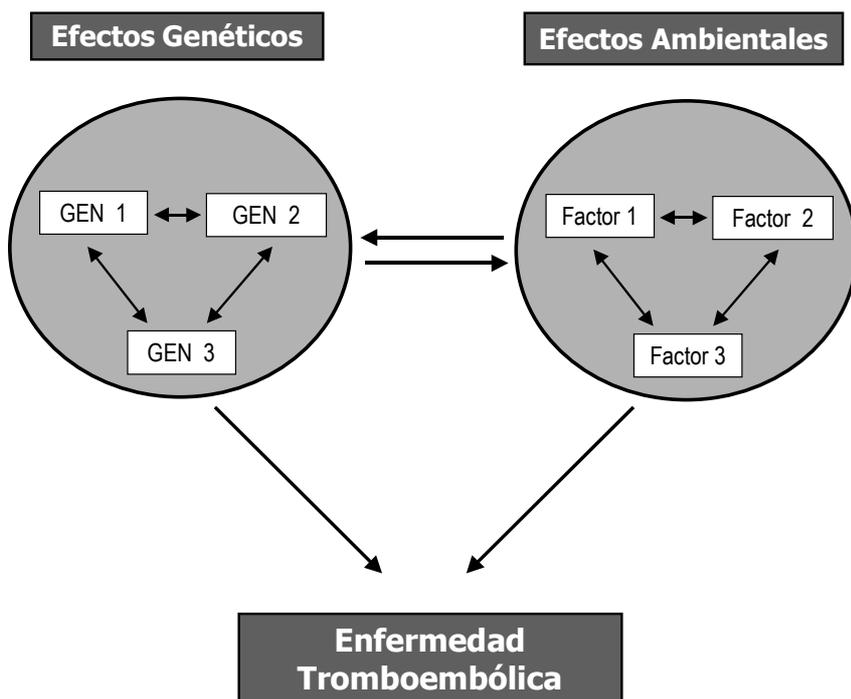


Figura 4. Esquema de la trombofilia como ejemplo de enfermedad compleja. La interacción de diversos genes entre sí, de factores ambientales entre sí, y de los genes con el ambiente, condicionan el fenotipo, en este caso, la enfermedad tromboembólica.

Tabla 1. Factores genéticos implicados en trombofilia.

HEREDITARIAS		
Déficit de antitrombina Resistencia a la PCa FV Leiden	Déficit de proteína C Mutación G20210A del gen de la Protrombina	Déficit de proteína S Disfibrinogenemia Trombomodulina
ADQUIRIDAS/HEREDITARIAS (la contribución relativa precisa no está establecida)		
Hiperhomocisteinemia	Elevación del Factor VIII	Elevación del fibrinógeno
POTENCIALMENTE HEREDITARIAS (no evidencias convincentes)		
Déficit de plasminógeno	Déficit de cofactor II de la heparina	Aumento de HRG
Deficiencia de t-PA, u-PA	Aumento de PAI-1	Disminución de TFPI
Hiperhomocisteinemia	Elevación del Factor VIII	Elevación del fibrinógeno

2.1. Deficiencia de antitrombina¹³

La antitrombina es una glicoproteína plasmática de 58 kDa, de síntesis hepática, que es el principal inhibidor de la trombina y de los factores Xa, IXa y XIa, mediante la formación de un complejo irreversible.

La deficiencia de antitrombina fue la primera trombofilia descrita. En 1965, Egeberg observó que determinados individuos de un familia noruega con historia de trombosis, mostraban niveles plasmáticos de antitrombina del 40-50% de lo normal.¹⁷ Posteriormente otros investigadores describieron familias similares. La deficiencia de Antitrombina se hereda de manera autosómica dominante por lo que afecta ambos sexos igualmente. Existen 2 tipos principales.¹³ El tipo I se caracteriza por una síntesis reducida del moléculas biológicamente normales. Así, encontramos niveles funcionales y antigénicos disminuidos paralelamente. La base molecular de esta alteración es, o bien una delección importante del gen que codifica su síntesis, o con más frecuencia, la presencia de pequeñas delecciones o inserciones, o sustituciones de nucleótidos aisladas. Estas mutaciones ocasionan desplazamientos de la pauta de lectura, la aparición de codones de finalización, cambios en el procesamiento del mRNA o productos inestables de traducción. Se han hecho públicas unas 80 mutaciones responsables de deficiencia de antitrombina tipo I. En la deficiencia tipo II se produce una ligera alteración molecular que afecta a su función (disminución de los niveles cuando se utiliza un ensayo funcional) pero con cantidades de proteína normales cuando se mide con una prueba inmunológica. Existen formas disfuncionantes que afectan a su capacidad de unión a la heparina que son clínicamente poco agresivas. Pueden encontrarse pacientes homocigotos del tipo II, o dobles heterocigotos, por la deficiencia homocigota de antitrombina no es compatible con la vida.

La prevalencia de deficiencia de antitrombina en la población general es aproximadamente el 2 por 1000, incluyendo casos tipo II con menor poder trombofílico.¹⁸

Aproximadamente el 55% los pacientes con deficiencia familiar sufren tromboembolismo venoso.¹⁹ Las manifestaciones clínicas son espontáneas en alrededor del 42% de los individuos, pero es frecuente que se manifiesten durante el embarazo, el parto,²⁰ utilización de anticonceptivos hormonales, cirugía o traumatismos. Las localizaciones más habituales de la trombosis incluyen la trombosis venosa profunda de las extremidades inferiores, el tromboembolismo pulmonar y la trombosis mesentérica, aunque pueden ocurrir en otras localizaciones menos habituales. A los 25-35 años, el 50% de los afectados han presentado algún episodio de trombosis. Se estima un riesgo de unas 50 veces superior a los individuos

sin déficit. Raramente pueden presentarse trombosis arteriales. Son frecuentes las recidivas y el riesgo de trombosis aumenta considerablemente con la edad.

Existen deficiencias adquiridas de antitrombina. La más frecuente es la que sucede en la insuficiencia hepática por una disminución de su síntesis. También aparece disminuida en la coagulación intravascular diseminada por consumo, en el síndrome nefrótico por excreción urinaria anómala y en algunas enteropatías que cursan con pérdidas proteicas. Se han identificado ligeros decrementos en mujeres que toman anticonceptivos hormonales o estrógenos. También disminuye la síntesis hepática de antitrombina la asparaginasa. La utilización de heparina produce disminuciones moderadas de antitrombina.

Todas estas circunstancias deben contemplarse antes de realizar un diagnóstico de deficiencia hereditaria de antitrombina. Es conveniente repetir la determinación en otra muestra diferente. También la identificación de otro familiar afecto puede ser de gran ayuda.

Dado que la heparina actúa potenciando el efecto inhibidor de la antitrombina, es posible que en pacientes deficientes se presente resistencia a la heparina. En estos casos está indicada la administración de concentrados de antitrombina en las situaciones de riesgo trombótico.

2.2. Deficiencia de proteína C²¹⁻²³

La proteína C es un glicoproteína plasmática de 62 kDa, de síntesis hepática dependiente de la vitamina K. Es la precursora de la proteína C activada. La activación de la proteína C se produce tras la unión de la trombina a la trombomodulina. Así, la trombina, pierde su efecto procoagulante, y se constituye en el paso inicial de activación de la vía de la proteína C. La proteína C activada es responsable de la inactivación de los factores Va y VIIIa. La acción de la PCa es más eficaz si se une a la proteína S. Esta reacción se produce en la superficie de las plaquetas y en el endotelio.

En 1981, describió la primera familia en la que varios individuos mostraron niveles disminuidos de proteína C antigénica e historia de episodios trombóticos recurrentes.²¹ Después, se han realizado estudios epidemiológicos más amplios en distintas poblaciones.

La deficiencia de proteína C se hereda de manera autosómica dominante. Los individuos afectados suelen padecer trombosis con frecuentes recidivas. El episodio inicial suele ser espontáneo en el 70% de los pacientes. En el resto puede identificarse un factor desencadenante conocido: embarazado, puerperio, cirugía, traumatismo, etc. Quizás en esta

deficiencia es más frecuente la trombosis durante el puerperio que antes del parto²⁰. La aparición de los primeros síntomas es más tardía que en el caso de la deficiencia de antitrombina (hacia los 40-50 años). Se considera que el riesgo de trombosis es de unas 8-10 veces superior a los individuos sin déficit. Las localizaciones son similares a las de las trombosis en pacientes con déficit de antitrombina, pero parece que los individuos deficientes en proteína C pueden sufrir con más frecuencia tromboflebitis superficiales.

En la población general la frecuencia de heterocigotos oscila entre 1/200 y 1/500 según las series y los criterios aplicados para seleccionar una población *normal*.^{24, 25}

Existen 2 tipos principales de deficiencia de proteína C. En el tipo I se encuentra una proteína normal, pero que se sintetiza en menor cantidad. En el caso de la deficiencia tipo II la proteína se sintetiza en cantidades normales pero es disfuncionante. Se han identificado más de 160 mutaciones responsables de la deficiencia de proteína C.²⁶ En el caso de deficiencias tipo I, las alteraciones más frecuentes suelen ser las que ocasionan una interrupción de la transcripción o bien producen una transcripción errónea (*nonsense o missense mutations*), aunque se han descrito mutaciones en el promotor, deleciones, anomalías en las zonas de *splicing*, inserciones,... En el caso del tipo II, suele ocurrir que la mutación ocasione la codificación para otro aminoácido, con frecuencia del centro activo, de los residuos Gla o de otra zona importante para la función de la proteína.

La deficiencia más común es la heterocigota. Los casos homocigotos son muy raros y graves. Al nacer se produce un cuadro de *purpura fulminans* con zonas de extensas necrosis cutáneas, más en zonas distales debidas a trombosis de vasos de mediano y pequeño calibre, con muy mal pronóstico si se difiere el tratamiento que consiste a administrar proteína C, bien transfundiendo plasma o mejor aportándola en forma de concentrados. Además al nacer presentan ceguera y hemorragias cerebrales.

Existe otro cuadro clínico peculiar, la necrosis cutánea inducida por anticoagulantes orales, que se ha asociado a la deficiencia de proteína C. Aparece a los pocos días de iniciar el tratamiento con anticoagulantes orales, especialmente si se dan dosis iniciales altas, y sin solapar su inicio con heparina. Se producen lesiones cutáneas necróticas, en ocasiones extensas, en extremidades, abdomen, mamas,... Se debe a trombosis de los vasos cutáneos. El cuadro se atribuye al rápido descenso de los niveles de proteína C después del inicio de antivitamínicos K, por la corta vida media de esta proteína (50% en un día). En cambio, otros factores procoagulantes (el IX, X y la protrombina), con vidas medias más largas, disminuyen más lentamente (4 días en el caso de la protrombina). Esto produce un cuadro

de hipercoagulabilidad que puede desencadenar una trombosis o empeorar la evolución de una trombosis subyacente.

Existen deficiencias de proteína C adquiridas en diversas situaciones: insuficiencia hepática, sepsis, CID, *distress* respiratorio del adulto, tratamiento con asparaginasa, con anticoagulantes orales, en el postoperatorio. En el síndrome nefrótico aumentan los niveles.

2.3. Deficiencia de Proteína S^{27,28}

La proteína S es una glicoproteína plasmática de 70 kDa, sintetizada en el hígado, en el endotelio, en los megacariocitos y células de Leydig testiculares. La vitamina K es también necesaria para su síntesis correcta. El cofactor de la proteína C activada en la degradación de los factores Va y VIIIa. Circula libre en plasma (40%) o unida al C4bBP (60%). La PS libre es la forma activa. Se cree que también podría producir una inhibición directa del complejo Xasa (IXa-VIIIa) y protrombinasa (Xa-Va), independiente de la unión al C4bBP.²⁹

La deficiencia de proteína S se relacionó con trombosis en 1984.³⁰ La herencia es autosómica dominante. La clínica es similar a la que aparece en los pacientes con otras deficiencias.

En condiciones normales, 2/3 de la proteína S circulan acomplejados con la proteína transportadora del C4b del complemento (*C4b binding protein* o C4bBP). El 1/3 restante es el disponible como cofactor de la proteína C activada, aunque la proteína S total puede ejercer otras funciones anticoagulantes independientes de su acción como cofactor de la proteína C activada.³¹ Debido a esta complejidad es recomendable medir tanto la proteína total como la libre en la evaluación de la trombofilia. También puede medirse la funcionalidad de la proteína S, pero pueden ser sensibles a otras alteraciones (niveles de factor VIII, anticoagulante lúpico, resistencia a la proteína C activada).

Existen 3 patrones de deficiencia. El déficit tipo I, con disminución de proteína S total de alrededor del 50% del normal, y con la proteína S libre y funcional más reducidas. Se han identificado más de 70 mutaciones responsables, entre las más frecuentes con mutaciones *missense*, inserciones o deleciones, creaciones de codones de finalización prematuros, o que afectan a las dianas de *splicing*. Otro tipo de deficiencia, el tipo II, se caracteriza por la presencia de niveles normales de proteína S total y libre, pero con la actividad disminuida, que en la mayoría de los casos correspondían casos de resistencia a la proteína C activada, y no a alteraciones en la propia proteína S. No obstante se han identificado muy

infrecuentemente algunos casos en los que existen mutaciones que afecta a la zona aminoterminal de la proteína S, en los dominios que interactúan con la proteína C activada. EL otro patrón identificado, el tipo III, es el más frecuente. Los pacientes muestran niveles normales de proteína S total, pero la forma libre y la actividad funcional están disminuidas. Es menos frecuente encontrar alteraciones genéticas responsables en estos pacientes. Existe un polimorfismo (proteína S Heerlen), en el que los pacientes portadores muestran niveles inferiores de proteína S libre, pero no está claro que tenga relación con la trombofilia. Como colofón que muestra la complejidad de los patrones de deficiencia de proteína S, existen familias en las que coexisten los fenotipos tipo I y tipo III, lo que sugiere que sean variantes fenotípicas del mismo genotipo,³² o bien que existan otros *loci* que regulen los niveles de proteína S.

No se conoce la prevalencia de la deficiencia de proteína S en la población general, probablemente por la complejidad que supone en ocasiones clasificar las deficiencias y por la necesidad de varias pruebas. Además, los rangos de normalidad son inferiores en mujeres premenopáusicas.³³

La edad en la que suele presentarse la primera trombosis es inferior en el tipo I (entre 30-35 años) que en el tipo III (50-55 años). La estimación del riesgo trombótico no está bien establecida. Como peculiaridades clínicas comparte con la deficiencia en proteína C una mayor tendencia a producir trombosis en el puerperio y un mayor riesgo de favorecer la necrosis cutánea por anticoagulantes orales. También los pacientes deficientes tienen mayor riesgo de recidiva de trombosis en los cambios de heparina a anticoagulantes orales. Aunque más raramente que en el déficit de proteína C homocigoto, le han descrito deficiencias homocigotas de proteína S que cursan con *purpura fulminans* neonatal.

Existen deficiencias adquiridas de proteína S en el embarazo, durante el uso de anticonceptivos hormonales, en la CID y durante la enfermedad tromboembólica aguda. También en algunos casos con elevación del C4bBP los niveles de proteína S pueden disminuir. Se han encontrado pacientes con infección por virus HIV y niveles disminuidos. El síndrome nefrótico aumenta los niveles de proteína S. También disminuye en las hepatopatías, en los tratamientos con asparaginasa, y se ha identificado un caso de deficiencia debida a un autoanticuerpo.³⁴ Al ser una proteína dependiente de la vitamina K, también disminuye en los tratamientos con anticoagulantes orales.

2.4. Resistencia a la proteína C activada. Mutación factor V Leiden³⁵⁻³⁷

El factor V es una glicoproteína plasmática de 300.000 kDa, de síntesis hepática. Se activa por la trombina y es el cofactor del factor Xa en el complejo protrombinasa (Xa-Va). La proteína C activada inactiva el factor Va actuando sobre los residuos arginina en las posiciones 306, 506 y 679.

En 1993, Dahlback identificó un nuevo mecanismo causante de trombofilia.³⁵ Se trataba de individuos con historia personal o familiar de trombosis, cuyos plasmas mostraban una pobre respuesta a la proteína C activada (PCa) en una prueba basada en el tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT). Este patrón de respuesta se denominó resistencia a la PCa (RPCa), y se observó que era una frecuente causa de trombofilia venosa.^{36,38,39} Más tarde se pudo demostrar que en la mayoría de los casos, el fenotipo RPCa era causado con una substitución de la guanina 1691 del gen del factor V por adenina. Esto ocasiona la síntesis de una proteína con un residuo glutamina (Gln) en la posición 506, donde debería haber una arginina (factor V Leiden),³⁷ en una de las zonas claves de inactivación del factor Va por la PCa. El factor Va con Gln en la posición 506 es más resistente a la degradación por lo que es más persistente y se incrementan sus capacidades procoagulantes.

Esta alteración es una de las más frecuentes causantes de trombofilia, en especial en el norte de Europa. Esto hace que sea relativamente frecuente encontrar individuos homocigotos y que se asocie a otras alteraciones responsables de trombofilia. Existe otra mutación que afecta a la Arg 306, otra diana de inactivación del factor Va, que también produce RPCa, pero es muy infrecuente.

Existe otro mecanismo que subyace la RPCa, y es que se sabe que el factor V (no el factor Va) por sí mismo es cofactor de la PCa en la inactivación del factor VIIIa. El factor V Leiden es menos efectivo que el factor V no mutado en mediar este efecto.³⁷

La prevalencia en la población general entre caucásicos, judíos, árabes e hindúes oscila entre el 1 y el 8,5%, y aparentemente la mutación no está presente en negros, chinos, japoneses e indios americanos. Se ha podido precisar que la mutación se originó aproximadamente hace 30.000 años, después de la divergencia entre poblaciones caucásicas, africanas y orientales.^{40,41} Una de las explicaciones del porqué esta mutación es tan frecuente, puede tener que ver con el hallazgo que las mujeres portadoras tienen una menor hemorragia postparto.⁴² Esto puede haber supuesto una ventaja evolutiva por una más fácil supervivencia de estas mujeres tras el parto.

Los pacientes heterocigotos con Factor V Leiden muestran un riesgo elevado de trombosis de entre 3,5 y 7 veces los no portadores.^{43,44} El riesgo en los homocigotos es unas 10 veces superior al que presentan los heterocigotos. En pacientes con trombosis la prevalencia en nuestro medio es de alrededor del 12,8%.³⁹ La edad de primera trombosis suele ser alrededor de los 35-40 años.

Aunque el riesgo trombotico que asocia esta mutación parece ser muy dependiente de la situación clínica subyacente. Así, aunque no existen dudas de que los anticonceptivos hormonales y el embarazo son frecuentes causas desencadenantes de trombosis, otras situaciones como el cáncer o la cirugía ortopédica pueden por sí solas ser responsables de la mayor parte del riesgo.^{44,45} Aunque no hay datos concluyentes respecto al riesgo de trombosis arterial, un estudio demuestra que esta mutación aumenta el riesgo de infarto de miocardio 2,4 veces en mujeres jóvenes con otros factores de riesgo arterial.⁴⁶

Si bien la mutación factor V Leiden es responsable del fenotipo RPCa en la mayoría de los casos, puede aparecer RPCa debida a la presencia de anticoagulantes tipo lúpulo o por niveles elevados de factor VIII. Además existen datos indirectos de que deben existir otros factores, probablemente genéticos, que influyan en este fenotipo. La constancia del hecho de que los pacientes con trombosis muestren niveles de RPCa inferiores a los controles, y de que exista una relación entre los niveles de RPCa y el riesgo de trombosis en ausencia de factor V Leiden, son datos que apoyan la existencia de otros factores que modifican los niveles de RPCa y que aumentan el riesgo de trombosis.^{46,47}

2.5. Mutación G20210A del gen de la protrombina

En 1996, el grupo de Leiden comunicó que la substitución de G por A en la posición 20210 del promotor del gen de la protrombina (PT20210A), se asociaba a niveles elevados de protrombina y a un incremento del riesgo de trombosis venosa.⁴⁸ Este cambio del gen no ocasiona alteración estructural en las moléculas de protrombina. Más tarde se identificó que era esta mutación, y no otra que estuviera en desequilibrio de ligamiento, la responsable del aumento de los niveles de factor II y del riesgo de trombosis.⁴⁹ El incremento de riesgo se estima en unas 2-3 veces.^{48,50} Debido a su frecuencia, especialmente en nuestro medio, no es infrecuente encontrar casos homocigotos que en ocasiones son asintomáticos.⁵¹ Esto apoya la idea de que no es una alteración con mucho poder trombotico.

La frecuencia de este polimorfismo dialélico en pacientes con trombosis oscila entre el 6,2% y el 17,2% que encontramos en nuestro medio.^{48,52} En controles sanos, la prevalencia de esta mutación en nuestro medio es del 6,2%.⁵² Debido a su frecuencia los homocigotos son relativamente comunes.⁵¹ La clínica no se diferencia demasiado de otras anomalías. La edad de presentación suele ser de entre 45-50 años. El riesgo de trombosis se calcula entre 2 y 3 veces los no afectados. Como peculiaridades clínicas cabe destacar una mayor prevalencia de la esperada en pacientes con trombosis de los senos venosos intracraneales y también un mayor riesgo de trombosis relacionada con anticonceptivos orales.^{53,54}

El mecanismo de porqué esta variante alélica produce un incremento de riesgo trombotico no se conoce, aunque en modelos de coagulación *ex vivo* se ha demostrado una mayor generación de trombina a medida que se aumenta la concentración de protrombina y, estos pacientes, muestran valores más elevados de protrombina en plasma. Esto no se ha visto al aumentar la concentración de otros factores estudiados.

2.6. Deficiencia de cofactor II de la heparina.

El cofactor II de la heparina es una serpina con una secuencia de aminoácidos análoga a la antitrombina. Es capaz de inhibir la trombina, pero no el factor Xa ni otros factores de la coagulación. La capacidad de inhibición de la trombina se incrementa de manera considerable en presencia de heparina, pero también en presencia de dermatán sulfato. Aunque *in vivo* contribuye a la inhibición de la trombina, no parece que su deficiencia esté claramente relacionada con el riesgo de trombosis ya que la proporción de pacientes tromboticos con deficiencias es similar a los controles (aproximadamente 1%).⁵⁵ El cofactor II de la heparina puede ser más importante en la inhibición extravascular de la trombina y puede tener un papel relevante en la inflamación, la cicatrización y reparación hística. También se ha visto que durante el embarazo aumenta y se ha propuesto un presunto papel protector contra la trombosis.⁵⁶ A este respecto, se ha observado que en las mujeres con preeclampsia disminuye.

2.7. Disfibrinogenemias.

Las alteraciones cualitativas del fibrinógeno suelen mostrar un patrón de herencia autosómica dominante. Las disfibrinogenemias con un grupo heterogéneo de enfermedades que pueden cursar sin síntomas, con diátesis hemorrágicas o con tromboembolismo arterial o venoso.⁵⁷ Las disfibrinogenemias son detectables con facilidad porque existe una prolongación de los tiempos de trombina y de reptilase, un fibrinógeno cuaglativo disminuido y antigénico normal. Los mecanismos propuestos por los cuales se cree que incrementan el riesgo de trombosis son variados. En general son fibrinógenos que producen fibrina que polimeriza de manera anómala. La trombina no se une bien a estas mallas de fibrina y uno de los mecanismos propuestos es que en estos pacientes existiría más trombina libre en la circulación. En otros casos, la fibrina se ha mostrado más resistente a la lisis, bien por una menor activación del plasminógeno en presencia de esta fibrina anómala, o bien por una dificultad de unión de los factores profibrinolíticos a la fibrina.⁵⁷

2.8. Hiperhomocisteinemia moderada

Desde hace más de 30 años se sabía que la aterosclerosis prematura y la trombosis arterial se asociaban con hiperhomocisteinemia severa, pero en los últimos años se ha establecido que niveles moderados o leves de hiperhomocisteinemia son un factor de riesgo independiente de aterosclerosis y trombosis.^{58,59}

La homocisteína es un aminoácido que se forma a partir de la metionina y vuelve a metionina por una de las 2 vías de remetilación o pasa a cisteína por transulfuración. En la remetilación catalizada por el enzima metionina sintetasa, la homocisteína obtiene el grupo metilo a partir de 5-tetrahidrofolato y la vitamina B₁₂ interviene como cofactor. Este paso está catalizado por la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR). La otra vía de remetilación secundaria, está catalizada por la betaína-homocisteína metiltransferasa. En la transulfuración, la homocisteína se combina con serina para formar cistationina, en una reacción que cataliza la cistationina β -sintetasa. Seguidamente se hidroliza a cisteína y α -cetobutirato por el enzima γ -cistationasa y la vitamina B₆ como cofactor.

La concentración plasmática de homocisteína es normalmente entre 5-16 μ M. Como resultado de anomalías en el metabolismo de la homocisteína, ésta se acumula. El término homocistinuria se refiere a un grupo de motabolopatías congénitas en las que se produce un

acúmulo severo de homocisteína (>100 μM) y excreción de homocistina por orina. Están causados principalmente por deficiencia homocigota de cistationina β -sintetasa que es muy rara (1/250.000). Los individuos afectados presentan aterosclerosis y trombosis venosas y arteriales precoces, retraso mental, ectopia del cristalino y anomalías esqueléticas. La hiperhomocisteinemia leve (16-24 μM) o moderada (24-100 μM), tiene su origen en anomalías genéticas o adquiridas. La deficiencia heterocigota de la cistationina β -sintetasa es una causa poco frecuente (0,3% de la población general). La mayoría de los casos se debe a la presencia de una variante termolábil de la MTHFR que es debida a una substitución de la alanina 677 por valina. Puede estar presente en el 1,4-15% de la población según su origen.

Las causas adquiridas más frecuentes corresponden a deficiencias de vitaminas B_{12} , folato o vitamina B_6 . Otro estado que contribuye a elevar los niveles es la insuficiencia renal o la disminución fisiológica de la función renal que acontece con la edad. El tabaquismo se ha relacionado también con hiperhomocisteinemia.

Los mecanismos fisiopatogénicos no se conocen totalmente, pero se sabe que la homocisteína lesiona la pared vascular. Estudios *in vitro* muestran que promueve la proliferación muscular lisa e inhiben el crecimiento de las células endoteliales. También produce descamación de células endoteliales, disminuye la trombomodulina y altera las respuestas vasomotoras. Induce la expresión de factor tisular, disminuye la expresión de heparán sulfato en la superficie endotelial, la síntesis de óxido nítrico y la liberación de prostaciclina. También se ha identificado que dificulta la unión del t-PA a la fibrina e inhibe la activación de la proteína C dependiente de la trombomodulina. No obstante la mayoría de estas investigaciones se han realizado con concentraciones muy superiores a las que se encuentran en la hiperhomocisteinemia moderada por lo que su papel concreto en la diátesis trombótica no está del todo esclarecido.

El diagnóstico de la hiperhomocisteinemia se suele realizar mediante la determinación de homocisteína en ayunas. En algunos casos, puede ser necesario realizar una determinación tras sobrecarga oral de metionina, en especial en los pacientes con deficiencia heterocigota de cistationina β -sintetasa.

La hiperhomocisteinemia moderada es un factor de riesgo independiente de infarto de miocardio, ictus isquémico y ateromatosis carotídea, y los niveles elevados predicen los eventos coronarios y la mortalidad en pacientes con enfermedad coronaria. También se ha relacionado con tromboembolismo venoso. Se han detectado niveles elevados de homocisteína en el 13-18% de los pacientes con trombosis venosas. También se ha

demostrado el doble de recurrencias en pacientes con niveles superiores al percentil 90º de la población normal.⁵⁸⁻⁶⁰

Se ha estimado un incremento del riesgo de trombosis de alrededor de 2,5 veces en los pacientes con niveles por encima del percentil 95º.⁶⁰

El hecho de que los niveles reducidos de folato, B₁₂ y B₆ se hayan asociado con hiperhomocisteinemia hacen atractiva la idea de prescribir o enriquecer las dietas con estas 3 vitaminas, con el fin de prevenir la ateromatosis y el riesgo de trombosis venosa y arterial. Aunque no hay estudios controlados, es razonable tratar la hiperhomocisteinemia sintomática con el fin de disminuir los niveles de homocisteína.

2.9. Anticuerpos antifosfolípidos.

Los anticuerpos antifosfolípidos son un heterogéneo grupo de autoanticuerpos dirigidos contra estructuras fosfolípicas unidas a determinadas proteínas. Los anticuerpos más implicados en trombofilia son las anticardiolipinas y los antifosfatidilserinas. Las proteínas que participan son en algunos casos la propia protrombina y en otros la β_2 -glicoproteína-I. En ocasiones, la presencia de los anticuerpos antifosfolípidos es capaz de prolongar *in vitro* los tiempos de coagulación, en especial el tiempo de tromboplastina parcial activado, aunque en ocasiones pueden prolongar el tiempo de protrombina. Cuando ocurre este fenómeno se habla de anticoagulante lúpico, porque inicialmente se identificó en pacientes con lupus eritematoso sistémico. Los anticuerpos antifosfolípidos pueden aparecer de manera aislada o asociados a otras entidades, como enfermedades autoinmunes (lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide,...), infecciones, pueden ser inducidos por fármacos, etc...

Clínicamente, los pacientes con anticuerpos antifosfolípidos presentan un riesgo incrementado de trombosis. Se han encontrado positivos en el 4,18% de pacientes con trombosis venosa.⁶¹ En el caso de que además se asocie trombocitopenia autoinmune, *livedo reticularis* y pérdidas fetales de repetición, se habla de síndrome antifosfolípido primario si no se asocia a ninguna enfermedad subyacente, o secundario en caso de que exista esta asociación. Muy raramente, los anticoagulantes lúpicos tienen una cierta especificidad hacia un factor y se comportan clínicamente como inhibidores de la coagulación. Se han descrito casos de anticoagulantes lúpicos con especificidad contra el factor VIII, IX, X y II, que cursan con hemorragia, y en alguna ocasión se han descrito alteraciones de la función plaquetaria.

2.10. Anomalías combinadas

Las deficiencias de antitrombina, proteína C o S son relativamente infrecuentes, aunque la alta prevalencia de las mutaciones recientemente identificadas o de otras alteraciones, hacen que la posibilidad de encontrar defectos combinados no sea baja. Los pacientes con anomalías combinadas muestran una clínica más precoz y severa.⁶²⁻⁶⁵ Es fácilmente imaginable que en los pacientes que no presentan alteraciones conocidas, en los próximos años van a identificarse nuevas alteraciones genéticas que van a conferir riesgo trombótico y que posiblemente se encuentren combinadas a otras anomalías. Esta idea abunda en la reciente visión de la trombofilia como una enfermedad compleja multifactorial, determinada por una base poligénica, por el ambiente, y por la interacción entre ambos.

2.11. Otros candidatos

Varias alteraciones genéticas han sido implicadas en el riesgo de trombosis en familias con trombofilia. En la mayoría de los casos corresponden a observaciones aisladas. Como componente de la vía de la proteína C, la trombomodulina es otra proteína candidata a presentar alteraciones causantes de trombofilia.⁶⁶ Al ser una membrana unida al endotelio, aunque puede medirse en plasma en situaciones de daño endotelial, hoy en día el único abordaje es el estudio genético. Aunque existen mutaciones en el gen de la trombomodulina, no está muy claro su papel en trombofilia y en todo caso son muy poco frecuentes.

Las alteraciones del plasminógeno cuantitativas o cualitativas se han observado asociadas de manera aislada a trombofilia. Sin embargo, en muchas ocasiones sólo el probando sufre clínica sin que otros miembros estén afectados. No queda claro que estas alteraciones tengan un papel en la trombofilia. También se ha estudiado sin llegar a conclusiones claras, el papel de los niveles elevados de glicoproteína rica en histidina (HRG) como causante de trombofilia al causar disminución de los niveles de plasminógeno. Otra alteración candidata sería la deficiencia del TFPI.⁶⁷ Aunque no se han encontrado mutaciones en este gen en familias con trombofilia, se ha comunicado una familia en la que dos hermanos presentaban niveles disminuidos de TFPI y marcada clínica trombótica.

Otra alteración que se había creído ligada a trombofilia era la deficiencia parcial de factor XII. Recientemente se han identificado polimorfismos del gen del factor XIII que podrían tener un papel protector, al producir un factor XIIIa con una menor eficiencia catalítica.

Recientemente se está reconociendo el papel como factor de riesgo trombótico de los niveles elevados de factor VIII,⁶⁸ de niveles elevados de factor XI⁶⁹ y de factor IX.⁷⁰ La heredabilidad de estos fenotipos y los defectos moleculares subyacentes están por establecer.

3. Situaciones clínicas que cursan con trombofilia secundaria

Existen diversas situaciones clínicas en las que existe un riesgo de trombosis (ver tabla 2). En estas situaciones existen cambios biológicos relacionados con la inflamación y las respuestas inflamatorias de fase aguda que producen un desequilibrio entre los mecanismos antitrombóticos y los protrombóticos. La liberación de factor tisular durante el trauma, la cirugía, la liberación de citocinas proinflamatorias (IL-1 y TNF) durante la infección, las alteraciones vasomotoras en los ictus isquémicos, etc... hacen que se estimulen las reacciones procoagulantes. El fibrinógeno aumenta en las enfermedades crónicas, inflamatorias, neoplasia, el potencial fibrinolítico disminuye por un aumento de PAI-1 y de la HRG que disminuye los niveles de plasminógeno y también disminuyen los niveles de proteína S.

Durante el embarazo también se producen cambios que si bien, están fisiológicamente encaminados a la prevención de la hemorragia post-parto, son un terreno abonado para la trombosis. Así hay un incremento de factor VIII, fibrinógeno, de la resistencia a la proteína C activada, una disminución de la proteína S. Además la placenta es muy rica en factor tisular, factor XIII y PAI.

Además, en estas situaciones clínicas adquiridas, pueden concurrir en pacientes con una base genética que favorezca la trombosis. Es este caso el riesgo trombótico es considerable.

Tabla 2. Situaciones de riesgo trombótico adquiridas

Disminución de antitrombina adquirida <i>Síndrome nefrótico, enteropatía pierde-proteínas, hepatopatías</i>
Resistencia a la proteína C activada adquirida <i>Aumento de factor VIII, anticoagulante lúpico</i>
Anticuerpos antifosfolípidos, anticoagulante lúpico
Alteraciones de la fibrinólisis: Aumento de PAI-1 o de HRG
Neoplasias
Embarazo y puerperio
Anticonceptivos orales
Hemoglobinuria paroxística nocturna
Anemia drepanocítica
Diabetes mellitus
Trombocitopenia inducida por heparina
Prótesis valvulares y vasculares artificiales
Vasculitis
Inmovilización
Infecciones
Estados inflamatorios (enfermedad inflamatoria intestinal,...)
Enfermedades crónicas (enfermedad de Beçhet, conectivopatías)
Edad avanzada
Cirugía ortopédica, general, urológica, ginecológica, oncológica,...
Obesidad.
Síndromes de hiperviscosidad (policitemias, mielomas, leucosis)

Justificación del tema unitario

Trabajo número 1:

Laboratory evaluation and clinical characteristics of 2,132 consecutive unselected patients with venous thromboembolism--results of the Spanish Multicentric Study on Thrombophilia (EMET-Study). Thromb Haemost. 1997; 77:444-51.

El objetivo de este estudio es el establecimiento de las prevalencias en población española de deficiencias de antitrombina, proteínas C y S, plasminógeno, cofactor II de la heparina, de presencia de anticuerpos antifosfolípidos y de disfibrinogenemia en pacientes con tromboembolismo venoso.

En la década de los 60 se descubrió la primera causa de trombofilia, la deficiencia de antitrombina. A pesar de tratarse de una deficiencia importante desde el punto de vista clínico, era rara en nuestra población aunque su frecuencia real se desconocía. En la década de los 80 se descubrieron dos nuevas causas de trombofilia, las deficiencias de las proteínas C y S. A finales de los 80 se disponía de una metodología fiable y accesible para medir en plasma ambas proteínas. La proteína C podía medirse desde el punto de vista funcional, con dos métodos. En ambos se procedía a su activación con un veneno de un ofidio, y después se en uno de ellos se medía la capacidad de la PCa de prolongar el tiempo de tromboplastina parcial activado (proteína C anticoagulante) y en el otro la capacidad de la PCa de degradar un substrato cromogénico (proteína C amidolítica). Mediante una técnica de ELISA, también se podía cuantificar la proteína C. En el caso de la proteína S, se podía medir mediante un ELISA la cantidad total de proteína (proteína S total), y con la misma técnica, pero precipitando antes los complejos PS-C4bBP tratando los plasmas con polietilenglicol, podía medirse la proteína S libre en el sobrenadante. Así era posible clasificar los déficit de proteína S en tipo I y tipo III.

También se conocían y se podían medir otras proteínas de las que no se sabía claramente si podían estar implicadas o no en la trombofilia. Este era el caso del plasminógeno y del cofactor II de la heparina y de algunas disfibrinogenemias.

Comenzaba a reconocerse el papel trombogénico de los anticuerpos antifosfolípidos, en especial de las anticardiolipinas y de las antifosfatidilserinas.

A pesar de esta información que se iba generando y de que se estaban llevando a cabo estudio de prevalencia de estas alteraciones en otras zonas geográficas, no existía información fiable acerca de la prevalencia que estas alteraciones trombofílicas tenían en nuestro entorno. Esto llevó a la *Unitat d'Hemostàsia i Trombosi de l'Hospital de la Santa Creu*

i Sant Pau a promover y coordinar un proyecto de registro nacional de pacientes no seleccionados que se presentaban con manifestaciones de trombosis venosas profundas en cualquier localización. El estudio recibió el nombre de EMET (Estudio Multicéntrico Español de Trombofilia). Se incluyeron 2.154 pacientes con trombosis procedentes de 29 Hospitales de todo el territorio español. En todos ellos se realizaron mediciones de los parámetros que entonces se sabía o se sospechaba que podían estar involucrados en la trombofilia: antitrombina, proteína C, proteína S, plasminógeno, cofactor II de la heparina, fibrinógeno y anticuerpos antifosfolípidos (incluido anticoagulante lúpico). Todas las alteraciones encontradas se repitieron en una segunda determinación, y en aquellas deficiencias que podían ser hereditarias, se intentó analizar a todos los parientes disponibles.

Trabajo número 2:

Increased risk of venous thrombosis in carriers of natural anticoagulant deficiencies. Results of the family studies of the Spanish Multicenter Study on Thrombophilia (EMET study). Blood Coagul Fibrinolysis. 1998 ; 9: 71-8.

Una vez identificados los individuos con deficiencias, resulta inmediato pensar que los individuos afectos asintomáticos pertenecientes a la misma familia, podrían presentar también un riesgo elevado de padecer trombosis. Este riesgo no estaba bien establecido. En este trabajo se resumen los hallazgos más importantes del estudio de las familias con deficiencias identificadas en la primera fase del estudio EMET. Se establece el riesgo de padecer trombosis en el caso de pertenecer a familias con deficiencias y estar afecto de ellas.

Trabajo número 3:

Patients with venous thromboembolism have a lower APC response than controls. Should this be regarded as a continuous risk factor for venous thrombosis? Haematologica. 1999; 84: 470-2.

La identificación de la resistencia a la proteína C activada como una nueva causa de trombofilia se produjo cuando el estudio EMET había finalizado. En este trabajo se establece la prevalencia de la resistencia a la proteína C activada en nuestra población con trombosis.

Además se estudian las causas de la resistencia a la proteína C activada, que en la mayoría de los casos corresponde a la mutación factor V Leiden. También se observa que la resistencia a la proteína C activada es un factor de riesgo de trombosis continuo (cifras inferiores, riesgos superiores). Esto sucede independientemente de la presencia de la mutación factor V Leiden.

Trabajo número 4:

The prothrombin 20210A allele is the most prevalent genetic risk factor for venous thromboembolism in the Spanish population. Thromb Haemost. 1998; 80: 366-9.

En este trabajo se establece que la prevalencia de la mutación G20210A del gen de la protrombina es muy prevelante en nuestro medio, tanto en población control como en población con trombosis. Es una de las más altas comunicadas.

Trabajo número 5:

Moderate hyperhomocysteinemia is a highly prevalent defect in Spanish patients with venous thromboembolic disease. Haematologica. 1998; 83: 1126-7.

Aquí se explora la hiperhomocisteinemia moderada en pacientes con trombosis, tanto en ayunas como tras sobrecarga oral con metionina. Es también una alteración con una prevalencia alta en nuestro medio.

Trabajo número 6:

Lack of association between venous thrombosis and subsequent malignancy in a retrospective cohort study in young patients. Am J Hematol. 1999; 60: 181-4.

Existen evidencias de asociación de neoplasias ocultas y la ocurrencia de trombosis venosas idiopáticas. Esto está establecido en pacientes de edades superiores a 60-65 años, y probablemente esté justificada la investigación clínica de la posible existencia de neoplasias subyacentes no diagnosticadas. No obstante, tal y como se refleja en este estudio, las causas más frecuentes en jóvenes son las alteraciones trombofílicas. La no existencia de

neoplasias en este grupo, aunque no excluye la posibilidad de que algún paciente presente trombosis asociada a cancer oculto en edad joven, sugiere que la búsqueda de esta entidad no está justificada en pacientes con edad inferior a 40 años.

Trabajo número 7:

Activated protein C resistance assay when applied in the general population. Am J Obstet Gynecol. 1997; 176: 358-9.

Tras el descubrimiento de la resistencia a la proteína C activada (y factor V Leiden) y la frecuencia con la que se encontraba en la población, se planteó la posibilidad de realizar un escrutinio poblacional con el fin de identificar individuos afectados, en especial mujeres que iban a recibir anticonceptivos hormonales. Este trabajo concluye que la investigación indiscriminada de esta alteración no está justificada.

Trabajo número 8:

Risk of thrombosis associated with oral contraceptives of women from 97 families with inherited thrombophilia: high risk of thrombosis in carriers of the G20210A mutation of the prothrombin gene. Haematologica 2001; 86: 965-971.

Es trabajo establece el riesgo de trombosis asociado a la ingesta de anticonceptivos en mujeres que pertenecen a familias con trombofilia. Se aprecia un riesgo aumentado en mujeres portadoras de la mutación G20210A del gen de la protrombina.

Objetivos

1. Establecer las prevalencias en la población española con tromboembolismo venoso de las siguientes alteraciones implicadas en trombofilia:

- 1.1. Deficiencia de antitrombina.
- 1.2. Deficiencia de proteína C.
- 1.3. Deficiencia de proteína S.
- 1.4. Deficiencia de plasminógeno.
- 1.5. Deficiencia de cofactor-II de la heparina.
- 1.6. Disfibrinogenemia.
- 1.7. Presencia de anticuerpos antifosfolípidos y anticoagulante lúpico.
- 1.8. Resistencia a la proteína C activada y mutación factor V Leiden.
- 1.9. Mutación G20210A del gen de la protrombina.
- 1.10. Hiperhomocisteinemia moderada.

2. Conocer las características clínicas más relevantes en los pacientes con alteraciones trombofílicas y establecer su papel en la identificación de individuos con trombofilia:

- 2.1. Edad de primera trombosis.
- 2.2. Tasa de recurrencias
- 2.3. Presencia de historia trombótica familiar
- 2.4. Tasa de trombosis idiopáticas o secundarias a estímulos ambientales.
- 2.5. Localización de las trombosis.

3. Establecer la necesidad de realizar estudios biológicos de trombofilia a los pacientes con trombofilia y qué determinaciones deberían incluir.

4. Estudiar los familiares de individuos afectados de deficiencias de proteínas anticoagulantes. Identificar portadores para estimar los riesgos de sufrir trombosis de los individuos afectados asintomáticos.

- 5. Establecer la necesidad de realizar estudios familiares de trombofilia a partir de la identificación de un paciente sintomático afecto.**

- 6. Evaluar la necesidad de realizar escrutinio de trombofilia a las mujeres que desean tomar anticonceptivos hormonales.**

- 7. Evaluar la necesidad de realizar búsqueda de neoplasia oculta en pacientes jóvenes tras un primer episodio de tromboembolismo venoso idiopático.**